

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LAMUN *ENHALUS ACOROIDES* DI PERAIRAN PASARWAJO BUTON

Sabaniah Indjar Gama, Nursiah La Nafie, Seniwati Dali

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas

Hasanuddin, Makassar

email: sndjargama@yahoo.co.id

ABSTRACT

*This research aims to isolation bacteria in seagrass *Enhalus acoroides* 1) determination optimum growth factor of bacteria that symbiont in seagrass 2) identification kind of bacteria that isolated in seagrass. Base on the research that has done, the results show that bacteria symbiotically in seagrass grow in optimum temperature is 27 °C in 10⁻³ dilution. Identification characteristic, morphology and gram colouring bacteria that symbionts in seagrass is gram negatif bacteria that showed with result of PCR which species isolated in seagrass is *enterobacter cloacae*.*

Keywords: *symbiont bacteria, Pasar Wajo Buton, *Enhalus acoroides**

ABSTRAK

Lamun *Enhalus acoroides* merupakan tanaman yang sangat penting bagi biota laut diperairan, salah satunya adalah bakteri karena lamun menyediakan tempat hidup serta nutrisi pada bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang berada pada lamun *Enhalus acoroides*, menentukan pertumbuhan optimum bakteri yang bersimbion pada lamun dan menentukan jenis bakteri yang diisolasi pada lamun. Adapun tahapan-tahapan adalah isolasi, identifikasi bakteri dengan Uji fisiologis (pewarnaan), Uji Biokimia, dan PCR. Berdasarkan hasil penelitian bahwasanya bakteri yang bersimbion pada lamun *Enhalus acoroides* tumbuh pada suhu optimum 27 °C pada pengenceran 10⁻³. Sedangkan penentuan karakter morfologi dan pewarnaan gram bakteri simbio, dilakukan berdasarkan Microbiology Laboratory Manual dan menunjukkan bahwa morfologi sel bakteri yang berada pada lamun yaitu basill (batang), hasil perwarnaan gram pada lamun diperoleh gram negatif, begitu juga uji biokimia dan diperkuat dengan data hasil polymerase chain resction (PCR) bahwa bakteri yang bersimbion pada lamun adalah *Enterobacter cloacae*.

Kata Kunci: bakteri simbio, Pasar Wajo Buton, *Enhalus acoroides*

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyaiperairanlaut yang lebih besar dari pada daratan, oleh karena itu Indonesia dikenal sebagai Negara maritim. Perairan laut Indonesia kaya akan berbagai biota laut baik flora maupun fauna. Demikian luas dan keseragaman jasad-jasad hidup di dalam yang kesemuanya membentuk dinamika kehidupan di laut yang saling berkesinambungan (Nybakken, 1992).

Salah satu sumber laut yang cukup potensial untuk dapat dimanfaatkan adalah lamun, dimana secara ekologis lamun mempunyai beberapa fungsi penting di daerah pesisir. Lamun merupakan produktifitas di perairan dangkal di seluruh dunia dan merupakan sumber makanan penting bagi banyak organisme (Den Hartog, 1970), selain itu juga lamun memberikan habitat bagi

berbagai makroorganisme dan mikroorganisme laut.

Salah satu factor ketertarikan organisme untuk menetap di lingkungan tersebut adalah padang lamun tergolong habitat yang produktif, sehingga mampu menyediakan makanan untuk kelangsungan hidup organisme yang berasosiasi. Selain itu sangat baik sebagai tempat berlindung dan sebagai daerah asuhan dalam siklus hidup kelompok hewan maupun tumbuhan tersebut (Tomascik *et al.* 1997).

Salah satu mikroorganisme yang ditemukan dalam jumlah yang melimpah ditemukan di padang lamun adalah bakteri. Bakteri merupakan komponen penting dalam proses mineralisasi pada ekosistem padang lamun. Lamun yang telah mati didekomposisi oleh bakteri, hasilnya berupa detritus sebagai makanan dari hewan-hewan laut antara lain cacing, teripang, krustase, anemon dan, *ascidian*, selain itu hasil degradasi organisme mati dapat menghasilkan nitrat dan fosfat yang dapat digunakan oleh tanaman lamun dan plankton. Bakteri selain berada di sekitar lamun juga berasosiasi dengan lamun, bakteri tersebut hidup pada helai daun dan cabang-cabang rimpang yang tegak. Beberapa bakteri asosiasi lamun memberikan kontribusi untuk pertahanan inangnya dengan cara mengeksresi antibiotik dan substansi bioaktif lainnya (Massinai, 2013).

METODE PENELITIAN

Waktu dan tempat pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 28 Januari 2015 diperairan Pasarwajo Buton.

Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Nehri Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah autoclave, cawan petri, mikropipet, ose, inkubator, neraca analitik, kain saring, tabung reaksi, erlenmeyer, beaker glass, plastik clening warp, aluminium foil.

Bahan yang digunakan adalah medium nutrien agar (NA), NaCl fisiologis, pewarnaan Gram digunakan larutan Safranin, Lugol Iodine, alkohol 96% dan kristal violet, Uji biokimia menggunakan TSA, H₂S, media TSI, media SIM, reagen *kovac*, glukosa, sukrosa, laktosa, reagen metil red, medium *Simmon's Citrate*, *Urea Broth*, medium McConky, medium TSIA, medium MR-VP.

Persiapan sampel

Sampel yang diperoleh dicuci bersih dengan aquades, kemudian disimpan kedalam plastik yang berisi air laut steril dan gliserol 10 %.

Penentuan Pengenceran

Sebanyak 15 gram Lamun dicuci dengan air laut steril, kemudian digerus dengan penambahan NaCl fisiologis 0,9%, setelah itu dibuat seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁸, selanjutnya dipipet sebanyak 0,05 mL sampel dimasukan kedalam 10-15 mL NA (metode tuang) setelah itu diinkubasi pada suhu kamar yakni suhu 27 °C.

Penentuan Kondisi Optimum

Sebanyak 15 gram Lamun dicuci dengan air laut steril, kemudian digerus dengan penambahan NaCl fisiologis 0,9%, setelah itu dibuat seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁸, selanjutnya dipipet sebanyak 0,05 mL sampel dimasukan kedalam 10-15 mL NA (metode tuang) setelah itu diinkubasi pada suhu 27 °C, 37 °C dan 47 °C dengan waktu inkubasi 1 × 24 jam, 2 × 24 jam, 3 × 24 jam, 4 × 24 jam dan 5 × 24 jam.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri dengan pengenceran yang telah ditentukan ditumbuhkan dan dimurnikan dengan metode gores. Isolat murni yang diperoleh kemudian diidentifikasi. Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan gram, pengamatan mikroskopis, pengujian biokimia (TSIA, SIM, uji fermentasi gula-gula, sitrat, urea, VP-MR) dan menentukan urutan DNA menggunakan PCR.

PEMBAHASAN

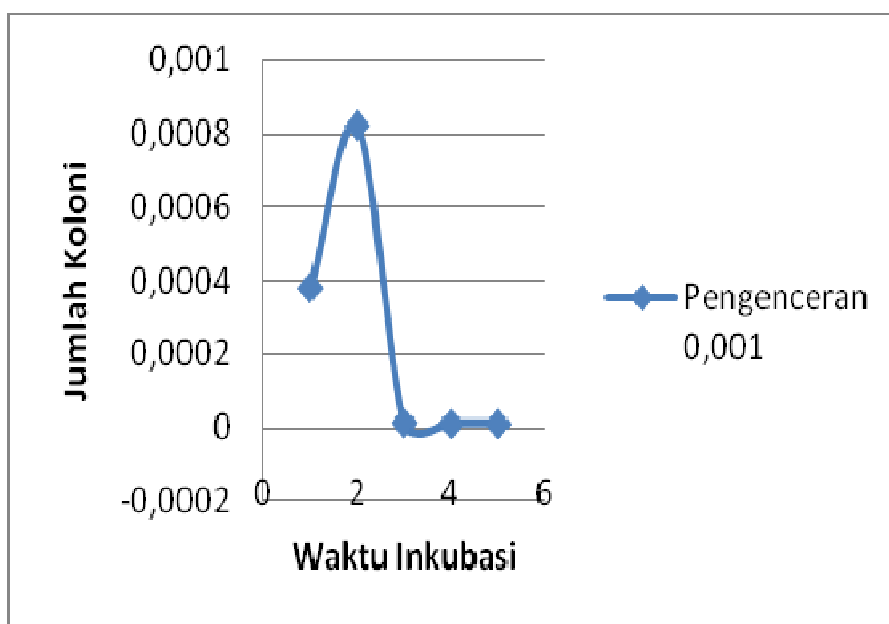
Penentuan pengenceran, pengamatan pertumbuhan bakteri simbion lamun *Enhalus acoroides* dilakukan dengan cara menumbuhkan pada media nutrisi agar dengan beberapa variasi pengenceran. bakteri yang bersimbion pada lamun, berada pada pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-3} yang mana mengikuti aturan perhitungan jumlah koloni bakteri dan mengikuti syarat (SPC) yakni pertumbuhan koloni tidak boleh lebih kecil dari 30 dan lebih besar dari 300 (Adriani, 2012).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan kondisi optimum

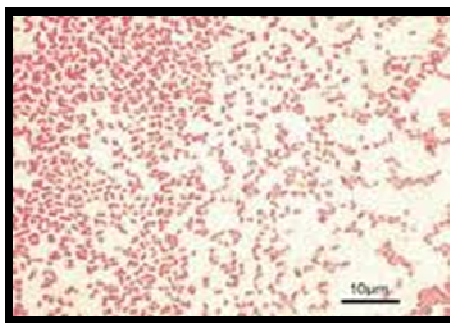
pertumbuhan bakteri simbion pada lamun *Enhalus acoroides* pada suhu 27–47°C. Kondisi optimum pertumbuhan bakteri lamun *Enhalus acoroides* ditumbuhkan pada media agar dengan waktu inkubasi 5 hari, untuk mengetahui pengenceran dan suhu yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri yang bersimbion pada lamun *Enhalus acoroides* tumbuh pada suhu optimum 27 °C pada pengenceran 10^{-3} .

Pertumbuhan bakteri bertambah secara teratur dan mengikuti pertumbuhan bakteri secara umum yang meliputi tahap penyesuaian, pertumbuhan dan penurunan. Pada hari 1 jumlah koloni yang diperoleh sebanyak $3,8 \times 10^{-4}$, hari ke 2 jumlah koloni yang diperoleh $8,2 \times 10^{-4}$, hari ke 3 jumlah koloni yang diperoleh $1,42 \times 10^{-5}$, pada hari ke 4 jumlah koloni yang diperoleh $1,2 \times 10^{-4}$, pada hari ke 5 jumlah koloni yang diperoleh $1,12 \times 10^{-5}$.

Hasil identifikasi secara fisiologi diperoleh bahwa bakteri yang bersimbion pada lamun *Enhalus acoroides* berasal dari golongan gram negatif berbentuk batang (basill).



Gambar 1. Pertumbuhan koloni bakteri pada pengenceran 10^{-3}



Gambar 2. Bakteri Gram negatif

Setelah diidentifikasi bakteri yang memuat ciri-ciri spesies bakteri, diketahui bahwa bakteri lamun *Enhalus acoroides* yang ditumbuhkan adalah *Enterobacteria*. Hasil uji biokimia pada bakteri lamun *Enhalus acoroides* yang ditumbuhkan terlihat pada Tabel 1.

Keakuratan data yang diperoleh dari uji biokimia dan uji gram bakteri diperkuat dengan identifikasi bakteri

dengan hasil PCR, yakni bakteri yang berada pada lamun *Enhalus acoroides* adalah bakteri *Enterobactercloacae*. Adapun hasil amplifikasi DNA dapat dilihat pada Tabel 2.

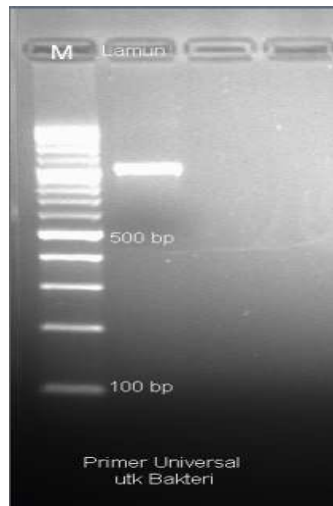
Proses purifikasi terlihat pada pita tunggal pada daerah 996 bp. Ini terlihat pada gambar dan susunan DNA primer 16S-RNA *Entrobactercloacae* terlihat pada Gambar 3.

Tabel 1. Hasil Pengujian biokimia pada bakteri lamun *Enhalus acoroides* yang ditumbuhkan

Pengujian		Hasil
TSIA	Slant	Asam
	Buth	Asam
	H ₂ S	-
	Gas	+
SIM	Indol	-
	Motil	+
	H ₂ S	-
MRP	MR	+
	VP	+
Sitrat		+
Urea		+
Glukosa		+
Laktosa		+
Sukrosa		+
Mamitol		+

Tabel 2. Amplikasi DNA

Primer	Sekuense	Posisi amplikasi	Ukuran amplikasi
Forward	TAATCGGATACTGGG	962	996 bp
Reverse	TAATCGGAATTACTGG	387744	



Gambar 3. Proses purifikasi terlihat pada pita tunggal pada daerah 996 bp

```

386786 TAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGG
      ATGTGAAATC 386845
386846 CCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCGAAACTGGCAGGCTGGAGTCTTG
      TAGAGGGGGG 386905
386906 TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCG
      GTGGCGAAGG 386965
386966 CGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCA
      AACAGGATTAG 387025
387026 ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTTCGATTTGGAGGTTGTGCCCT
      TGAGGCGTG 387085
387086 GCTTCCGGAGCTAACCGCTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAA
      GGTAAAACCT 387145
387146 CAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT
      CGATGCAACG 387205
387206 CGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGAT
      TGGTGCCTTC 387265
387266 GGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAA
      ATGTTGGGTT 387325
387326 AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCC
      GGGAAC TCA 387385
387386 AGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
      ATCATGGCCCT 387445
387446 TACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCG
      ACCTCGCGAGA 387505
387506 GCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACT
      CGACTCCATG 387565
387566 AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTT
      CCCGGGCCTT 387625
387626 GTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTA
      GCTTAACCTT 387685
387686 CGGGAGGGCGCTTACCACTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAAG
      CGTAACAAGG-TAA387742
387743 CC 38774
    
```

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang diperoleh bahwasanya bakteri yang diisolasi pada lamun *Enhalus acoroides* adalah *Enterobacter cloacae* yang merupakan bakteri gram negatif dengan morfologi bakteri basill (batang).

DAFTAR PUSTAKA

1. Adriani, Alfian Noor, Abdul Rauf Patong, Maming. 2012. Analisis Kadar Logam Cu Dalam Bakteri Simbion Pada Spons *Callyspongia* sp. *Jurnal marine acta* 13 (2).
2. Brockman, F. J., Denovan, B., Hicks, R. J dan Fredicson, J. K. 1989. Isolation and characterization of quinoline degrading bacteria from subsurface sedimen. *Appl. and Environm. Microbiology*. Volume 59(1) : 340-343
3. Fenchel, T. 2001. Microorganisms (Microbes), Role of: *Encyclopedia of Biodiversity* 4 : 207-219.
4. Massinai, A, Abdul Haris, Eka Lisdayanti, dan Benny Audy Gosary. 2013. *Lamun Pulau Bonebatang, Kepulauan Spermonde Dan Bakteri Asosiasinya*, Fakultas perikanan dan kelautan Universitas Hasanuddin, Makassar.
5. Lay, B. W. 1994. *Analisis mikroba di laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
6. Ogensky, E. L. and Umbreit W. W. 1959. *An introduction to Bacterial Physiology*. 2nd Ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco and London: 117134.
7. Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid I*. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. UI Press, Jakarta.
8. Ravikumar, S., Thajuddin N., Suganthi P., Jacob S and Vinodkumar T. 2010. Bioactive Potential of seagrass bacteria against Human bacterial Pathogens. *Journal of Environmental Biology*. **31** (3) : 387-389.